

(19)



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets

(11) Numéro de publication:

0 308 564
A1

(12)

DEMANDE DE BREVET EUROPEEN

(21) Numéro de dépôt: 87402632.1

(51) Int. Cl.⁴: A61K 31/14

(22) Date de dépôt: 23.11.87

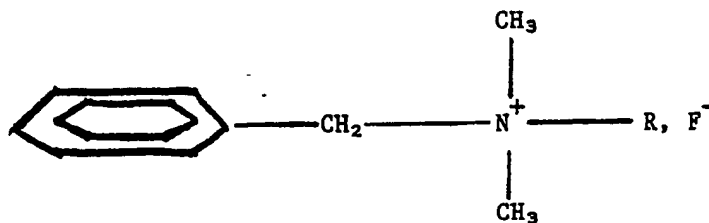
(30) Priorité: 23.09.87 FR 8713156

(43) Date de publication de la demande:
29.03.89 Bulletin 89/13(84) Etats contractants désignés:
AT BE CH DE ES FR GB GR IT LI LU NL SE(71) Demandeur: ATLANTIC PHARMACEUTICAL
PRODUCTS LIMITED
Celbridge
Dunaghcumper Co Kildare(IE)(72) Inventeur: Bourbon, Pierre
36, rue Volta,
31000 Toulouse(FR)
Inventeur: Billot, Pierre
20, Boulevard de la Saussaye
92200 Neuilly sur Seine(FR)
Inventeur: Lagny, Pierre
6, Castle Town Court
Celbridge, c/o Kildare(IE)(74) Mandataire: Derambure, Christian
BUGNION ASSOCIES 55, rue Bolissonade
F-75014 Paris(FR)

(54) Composition inhibitrice ou destructrice d'au moins un être vivant unicellulaire renfermant un fluorure d'ammononium quaternaire et procédé de préparation de ce sel.

(57) L'invention concerne une composition inhibitrice ou destructrice d'au moins un être vivant unicellulaire renfermant un fluorure d'ammononium quaternaire, des différentes applications de ce sel et un procédé de préparation de ce sel.

Un sel d'ammonium quaternaire selon l'invention à la formule suivante :



EP 0 308 564 A1

COMPOSITION INHIBITRICE OU DESTRUCTRICE D'AU MOINS UN ETRE VIVANT UNICELLULAIRE RENFERMANT UN FLUORURE D'AMMONIUM QUATERNAIRE ET PROCEDE DE PREPARATION DE CE SEL

L'invention concerne l'inhibition ou la destruction des êtres vivants unicellulaires tels que les protozoaires, microbes, bactéries, gamètes, champignons, levures ou autres et des virus. Elle vise plus particulièrement les domaines techniques de la contraception locale, de l'antibiothérapie, de l'antiseptie, de la lutte contre les maladies sexuellement transmissibles y compris les mycoses, de la lutte contre les affections virales, et ce dans le cadre de la pharmacie à usage humain ou vétérinaire ou de la cosmétique. L'invention peut également avantageusement être appliquée dans le domaine de la désinfection de surfaces ou encore en agriculture par exemple dans la lutte contre les fungus et les bactéries.

On connaît déjà de nombreuses substances inhibant ou détruisant les êtres vivants unicellulaires, et parmi elles les agents tensio-actifs tels que les sels d'ammonium quaternaire. En particulier on sait que les halogénures d'ammonium quaternaire tels que le chlorure de benzalkonium (ou chlorure de diméthyl benzyl ammonium), seuls ou en combinaison avec d'autres principes actifs, sont avantageux dans ces applications (voir par exemple brevets anglais 1 554 615, français 2 431 859, 2 483 177, 2 379 508, 2 384 497, 2 457 641, 2 573 624, 2 418 221, 2 562 888, européens 0 243 713, 0 175 338, 0 132 963, 0 127 131, 0 094 562, 0 076 136, 0 068 399, 0 037 593, demande de brevet européen non publiée n° 86 402 716.4 déposée le 8.12.1986 et demandes internationales WO 84/00877 et WO 84/02649).

On sait également par ailleurs que les halogénures d'ammonium quaternaire les plus faciles à fabriquer et les mieux connus, pour ces applications et dans d'autres applications connues, sont les chlorures, les iodures, le bromures et les chloriodites (voir brevets mentionnés ci-dessus, et également brevets français 2 002 945, 2 185 717, 2 267 092, 2 366 260, 2 366 261, 2 391 991, 2 418 220, 2 419 024, 2 482 090, 2 505 325, 2 517 672, 2 562 799 et européens 0 191 236).

Par ailleurs, l'art antérieur a déjà fourni de nombreux procédés de fabrication de ces sels d'ammonium quaternaires, mais qui ne sont applicables directement, parmi les halogénures d'ammonium quaternaires qu'aux chlorures et/ou iodures, et/ou bromures, et/ou chloriodites. (voir brevets ci-dessus et également brevets français 2 472 558, 2 033 044 et européens 0 094 552 et 0 012 296).

On connaît également le fluorure d'ammonium et ses procédés de préparation et purification (voir par exemple brevets français 2 244 713, 2 253 710 et européen 0 002 016), et des sels d'ammonium quaternaires perfluorés ou polyfluorés (par exemple brevets français 2 038 421, 2 051 095, 2 153 489 et européens 0 073 760, 0 100 478, 0 100 477, 0 149 172).

Le fluor ionique est par ailleurs bien connu pour ses propriétés anti-carie dans les applications dentaires (par exemple brevet américain 4 473 547; dictionnaire VIDAL, 1985, page 582, O.V.P., Paris, "fluor monal"), éventuellement associé à un ammonium quaternaire cationique (voir brevets français 1 486 676 et 1 297 708). Dans ces derniers documents on met en évidence l'avantage d'associer dans un même composé d'une part le fluor bien connu pour ses propriétés anti-carie, et d'autre part les sels d'ammonium quaternaire tensio-actifs connus pour leurs propriétés bactéricides. Cependant aucune activité véritablement synergique n'est démontrée dans ces applications pour les dentifrices, avec les fluorures d'ammonium quaternaire testés que ce soit vis-à-vis des propriétés anti-carie ou vis-à-vis des propriétés bactéricides.

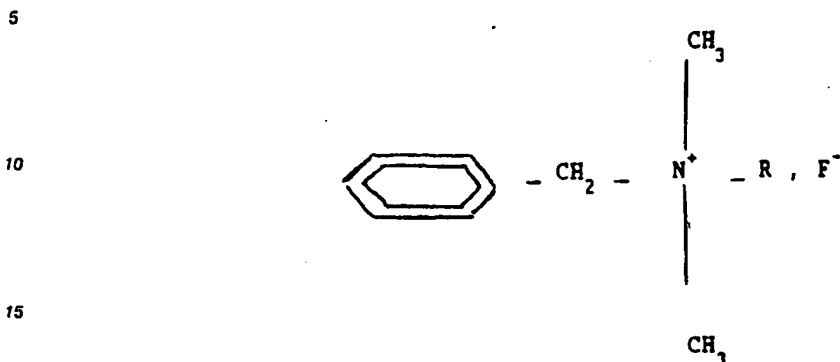
Le brevet français 1 297 708 décrit en particulier le fluorure de lauryl-benzyl-diméthyl-ammonium, un procédé de préparation de ce fluorure et son application dans une pâte dentifrice.

Enfin, le brevet italien 1 153 530 décrit un procédé de préparation de carbonates d'ammonium quaternaires puis, à partir de ces carbonates, des halogénures d'ammonium quaternaires par échange d'anions avec l'acide correspondant plus fort que l'acide carbonique. Cependant ce brevet ne mentionne pas comment ce procédé peut être appliqué à la préparation de fluorures. Par ailleurs si les composés obtenus grâce à ce procédé sont aptes à être appliqués dans la désinfection de surfaces et dans l'industrie, ils ne peuvent être directement utilisés sur l'être humain ou animal, par exemple dans les compositions pharmaceutiques dans lesquelles les composés doivent avoir une grande pureté.

Par rapport à cet état général de la technique, l'invention se pose le problème de fournir une composition totalement inhibitrice ou destructrice d'êtres vivants unicellulaires et qui soit simultanément applicable à l'être vivant, humain, animal ou végétal sans provoquer pour autant des réactions secondaires néfastes. En effet, il est aujourd'hui difficile, voire impossible, de préparer une telle composition à l'aide des halogénures d'ammonium quaternaires sans se résoudre soit à provoquer des effets secondaires (irritations, allergies, rougeurs ...) soit à ne pas être suffisamment actif. Le problème se pose en particulier avec les compositions spermicides connues à base de chlorure de benzalkonium, ou dans la lutte contre les virus ou rétrovirus tels que l'herpès ou le LAV responsable du SIDA.

L'invention vise en particulier à perfectionner l'invention objet de la demande de brevet européen non publiée n° 86 402 716.4.

Les inventeurs ont mis en évidence que, parmi les halogénures d'ammonium quaternaire connus, le fluorure de benzalkonium, de formule générale :



20 où R est un radical alcoyle pouvant varier entre C₈H₁₇ et C₁₈H₃₇, fournit une activité nettement meilleure et inattendue dans le domaine de la destruction ou de l'inhibition des êtres vivants unicellulaires. En particulier, les résultats sont nettement supérieurs à ce que l'on pouvait espérer en fonction des propriétés connues respectives du fluor ionique et du cation benzalkonium, notamment tels qu'annoncés dans la demande de brevet européen non publiée n° 86 402 716.4.

25 L'invention concerne donc une composition inhibitrice ou destructrice d'au moins un être vivant unicellulaire, protozoaire, microbe, champignon, levure, virus ou autre et plus particulièrement une composition antibiotique, une composition virucide, une composition fongicide, une composition pharmaceutique bactéricide, une composition destinée à être appliquée sur les organes génitaux pour lutter contre maladies sexuellement transmissibles, une composition contraceptive locale, notamment spermicide, une composition cosmétique ou d'hygiène corporelle, une composition pour la désinfection locale du corps humain ou de surfaces, caractérisée en qu'elle renferme au moins un fluorure de benzalkonium tel que définit ci-dessus. De préférence le radical R est un radical alcoyle compris entre C₁₂H₂₅ et C₁₄H₂₉. plus particulièrement, l'invention concerne une composition galénique caractérisée en ce qu'elle comporte entre 0,05% et 7% en poids, notamment de l'ordre de 1%, d'un tel fluorure de benzalkonium suffisamment purifié, et ce de façon à ce que cette composition galénique puisse être utilisée pour l'être humain ou animal.

35 Une composition selon l'invention peut renfermer un autre principe actif choisi en fonction de la destination de la composition, -notamment un antibiotique- en combinaison avec le fluorure de benzalkonium précité.

40 De même, une composition selon l'invention renferme avantageusement outre le fluorure de benzalkonium précité, au moins un fluorure métallique. Les proportions à utiliser de fluorure de benzalkonium et de fluorure métallique permettent de faire varier la proportion de fluor ionique F⁻ par rapport à la proportion de benzalkonium. Une composition selon l'invention renferme de préférence du fluorure de lithium, qui s'est avéré avoir un effet synergique supplémentaire.

45 Plus généralement, l'invention concerne un médicament caractérisé en ce qu'il renferme au moins un fluorure de benzalkonium tel que mentionné ci-dessus. Le radical R est de préférence un radical alcoyle compris entre C₁₂H₂₅ et C₁₄H₂₉, et le fluorure de benzalkonium est de préférence présent à une proportion variant entre 0,2% et 1% en poids.

50 L'invention concerne également l'application d'au moins un fluorure d'ammonium quaternaire de formule générale R₁ R₂ R₃ RN⁺, F⁻ pour obtenir une composition selon l'invention, et plus particulièrement une composition spermicide, une composition pharmaceutique antibiotique administrable par voie générale, une composition topique antibiotique, une composition pharmaceutique bactéricide, une composition topique destinée à lutter contre les affections virales, notamment les affections virales de la peau et des organes génitaux, une composition pharmaceutique administrable par voie générale ou parentérale destinée à lutter contre les virus ou les rétrovirus, notamment l'herpès ou le LAV (ou HIV) responsable du SIDA, une composition destinée à lutter contre les affections mycosiques. De préférence, le radical R₁ est formé du radical benzyle, R₂ et R₃ sont formés du radical méthyle, R est un radical alcoyle entre C₈H₁₇ et C₁₈H₃₇, de sorte que le fluorure d'ammonium quaternaire mentionné est un fluorure de benzalkonium tel que cité ci-dessus. Plus particulièrement, R est de préférence un radical alcoyle variant entre C₁₂H₂₅ et C₁₄H₂₉.

L'invention concerne également un procédé de préparation d'un fluorure d'ammonium quaternaire sous forme de sel solide ou pâteux, suffisamment pur pour être inclus dans une composition destinée à l'être humain ou animal, caractérisé en ce que l'on fait réagir en quantités stoechiométriques, un méthylcarbonate d'ammonium quaternaire avec de l'acide fluorhydrique solubilisé dans un alcool jusqu'à l'arrêt du dégagement gazeux d'anhydride carbonique puis on élimine l'alcool restant par évaporation sous vide. De préférence, on purifie préalablement le méthylcarbonate d'ammonium quaternaire en le lavant à chaud dans de l'éther de pétrole jusqu'à disparition de sa couleur jaune ambré, puis on sépare le méthylcarbonate d'ammonium quaternaire par décantation. L'acide fluorhydrique solubilisé dans un alcool est obtenu par déplacement d'acide fluorhydrique gazeux par un courant d'air à partir de solution aqueuse à 40%, et solubilisation dans l'alcool à 0° C. De préférence, l'acide fluorhydrique est solubilisé dans le méthanol. L'évaporation sous vide de l'alcool est de préférence réalisée en deux étapes, notamment une étape sous une pression de 10mm de mercure (1,333224.10³Pa) puis une étape sous une pression de 0,01mm de mercure (1,33224 Pa). Le fluorure d'ammonium quaternaire obtenu est ultérieurement purifié par lavage à chaud dans de l'éther de pétrole, puis séparation par centrifugation et séchage sous vide. Il est également possible de purifier le fluorure d'ammonium quaternaire obtenu par dissolution à chaud dans l'acétone puis refroidissement lent, séparation du résidu pâteux et séchage sous vide.

Le procédé de préparation de l'invention est avantageusement applicable à la préparation d'un fluorure de benzalkonium tel que mentionné ci-dessus. Il permet d'obtenir un sel extrêmement pur utilisable dans une composition destinée à l'être humain ou animal, notamment une composition pharmaceutique. Le méthylcarbonate de benzalkonium utilisé en commun avec l'acide fluorhydrique peut être obtenu comme enseigné dans le brevet italien 1 153 530 à partir de l'amine tertiaire correspondante et de diméthylcarbonate.

25 Exemple de préparation d'un fluorure de benzalkonium en C₁₂ :

Trois kilogrammes de C₁₂ diméthyl-benzyl-ammonium méthylcarbonate sont traités par 6,31 de HF 1,25N solubilisé dans le méthanol.

Il se produit un fort dégagement d'anhydride carbonique. En fin de réaction le pH est compris entre 5 et 6. Après évaporation sous vide du méthanol, on obtient une masse pâteuse translucide jaune ambré.

La purification de cette masse pâteuse est effectuée par dissolution à chaud de la masse translucide dans l'acétone à chaud. Après refroidissement lent, on sépare le résidu pâteux qui est ensuite débarrassé du solvant restant sous vide.

La pureté du fluorure de benzalkonium obtenu est contrôlée par un dosage de l'ion F⁻ à l'électrode spécifique, et un dosage HPLC (chromatographie liquide haute pression) de l'ammonium quaternaire. Dans cet exemple, la pureté du produit obtenu a été de 99%.

Exemple de préparation d'un fluorure de benzalkonium en C₁₂ avec purification préalable :

Un kilogramme de C₁₂ diméthyl-benzyl-ammonium méthylcarbonate porté à son point de fusion est lavé à l'éther de pétrole et séché sous vide.

Il est ensuite attaqué à l'état fondu par 2,761 de HF 1,5N dans le méthanol. Il se produit un fort dégagement d'anhydride carbonique. En fin de réaction le pH est compris entre 5 et 6. Après évaporation sous vide du méthanol, on obtient une masse pâteuse translucide jaune ambré. La purification est effectuée par dissolution à chaud de la masse translucide dans l'acétone à chaud. Après refroidissement lent, on sépare le résidu pâteux qui est ensuite débarrassé du solvant restant sous vide.

La pureté du produit contrôlée selon la même méthode que dans l'exemple précédent a été de 99%.

50 Exemple de préparation d'un fluorure de benzalkonium en C₁₄ :

Les mêmes procédé de fabrication que dans les 2 exemples précédents ont été utilisés un substituant au C₁₂ diméthyl-benzyl-ammonium méthylcarbonate, le C₁₄ diméthyl-benzyl-ammonium méthylcarbonate.

Le fluorure de benzalkonium obtenu se présente également sous forme d'une masse pâteuse jaune ambré.

Après purification, la pureté a été respectivement de 98% et 99%.

Les fluorures de benzalkonium préparés comme indiqués précédemment ont été utilisés dans les

essais décrits ci-dessous, permettant de mesurer leur activité.

Sauf indication contraire, les méthodologies employées ont été celles déjà décrites dans la demande de brevet européen 86 402 416.4 déposée le 8.12.1986: L'enseignement de cette demande de brevet européen est considéré comme connu dans la description ci-après.

5

Essai n° 1 : Activité spermicide des compositions in-vitro :

Les tests de SANDERS-CRAMER selon les normes de l'IPPF (Fédération Internationale Pour le
 10 Planning Familial) ont été réalisés pour déterminer la concentration minimale inhibitrice du fluorure de benzalkonium. On a ainsi obtenu une concentration minimale inhibitrice (CMI) du fluorure de benzalkonium en C₁₂ de 2 mg/l, soit 0,002%. Cette valeur est à comparer à la CMI du chlorure de benzalkonium seul qui est de 0,063% et à la CMI du chlorure de benzalkonium en présence d'anion F⁻ à 1 µg/ml, qui est de 0,003%. Comme on le constate donc, le fluorure de benzalkonium procure une activité supérieure au
 15 chlorure de benzalkonium seul, mais également supérieure à l'association du chlorure de benzalkonium à l'anion fluorure F⁻ par exemple sous forme de fluorure de sodium.

Essai n° 2 : Activités comparées des préparations galéniques spermicides:

20

Cet essai in-vitro a été réalisé sur des préparations galéniques renfermant comme principe actif soit du chlorure de benzalkonium seul, soit du chlorure de benzalkonium avec 0,45% en poids d'anion fluorure F⁻ sous forme de fluorure de sodium, soit du fluorure de benzalkonium. Les CMI sont déterminées après simulation in-vitro des conditions réelles in-vivo (extraction, solubilisation, ...). Le test de SANDERS-
 25 CRAMER de l'IPPF est ensuite réalisé in-vitro. Les résultats obtenus sont résumés dans les tableaux suivants :

FORME GALENIQUE	Proportions de chlorure de benzalkonium seul (en poids) dans la forme galénique	CMI (% en poids) du chlorure de benzalkonium
Ovule	1,2%	0,0063%
Crème	1,2%	0,0083%
Tampon	1,2%	0,0075%
Comprimé	3,12%	0,0095%
35 Film soluble	1,2%	0,0080%
Gelée	1,2%	0,0080%

FORME GALENIQUE	Proportions de chlorure de benzalkonium seul (en poids) dans la forme galénique avec 0,45% d'anion F ⁻	CMI (% en poids) du chlorure de benzalkonium
Ovule	1,2%	0,0023%
Crème	1,2%	0,0030%
45 Tampon	1,2%	0,0025%
Comprimé	3,12%	0,0025%
Film soluble	1,12%	0,0017%
Gelée	1,12%	0,0033%

50

55

FORME GALENIQUE	Proportions de fluorure de benzalkonium (en poids) dans la forme galénique.	CMI (% en poids) du fluorure de benzalkonium
Ovule	1%	0,0019%
Crème	1%	0,0022%
Tampon	1%	0,0020%
Comprimé	2,5%	0,0020%
Film soluble	1%	0,0012%
Gelée	1%	0,0026%

On constate donc que le fluorure de benzalkonium a une concentration minimale inhibitrice très inférieure à celle du chlorure de benzalkonium et même à celle du chlorure de benzalkonium en présence d'anion F⁻. Un effet synergique surprenant est donc dû au fluorure de benzalkonium.

Essai n° 3 : Activités fongicides comparées :

Les activités fongicides ont été testées sur trois souches de moisissure selon la norme AFNOR T72-201. Les trois souches de moisissure ont été les suivantes :

- *Aspergillus versicolor* CNCM 1187-79,
- *Cladosporium cladosporioides* CNCM 1185-79,
- *Penicillium virrucosum* var. *cylopium* CNCM 1186-79.

L'essai a été également réalisé sur une souche de levure : *Candida albicans* (ATCC 2091) CNCM 1180-79.

Les essais ont été réalisés avec un temps de contact de 15mm à 20 °C.

Deux types d'essais ont été réalisés : un premier essai comparant l'activité fongicide du chlorure de benzalkonium seul au fluorure de benzalkonium seul, et un deuxième essai comparant l'activité fongicide du chlorure de benzalkonium associé au fluorure de lithium et au conservateur KATHON, l'activité fongicide du fluorure de benzalkonium associée au fluorure de lithium et au même conservateur KATHON.

Les résultats sont résumés dans les tableaux suivants :

	Concentration fongicide selon norme AFNOR en µg/ml (ppm)	
	Chlorure de benzalkonium	Fluorure de benzalkonium
<i>Aspergillus versicolor</i>	100	100
<i>Cladosporium</i>	200	200
<i>Penicillium</i>	50	50
<i>Candida Albicans</i>	50	50

	Concentration fongicide selon norme AFNOR en µg/ml (ppm)	
	Chlorure de benzalkonium + FLI 0,9µg/ml + Kathon 0,49µg/ml	Fluorure de benzalkonium + FLI 0,9µg/ml + Kathon 0,49µg/ml
<i>Aspergillus versicolor</i>	100	100
<i>Cladosporium</i>	2000	100
<i>Penicillium</i>	50	50
<i>Candida Albicans</i>	50	50

On constate donc que l'association du fluorure de benzalkonium avec le fluorure de lithium et le conservateur kathon est dans certains cas meilleure que l'association du chlorure de benzalkonium au

fluorure de lithium et au même conservateur kathon.

Essai n° 4 : Activité sur les êtres pathogènes responsables des maladies sexuellement transmissibles :

5.

Les essais ont été réalisés sur des souches de Gonocoque, Trichomonas, Chlamydia, Gardnerella, et Bacille de Ducrey. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

Souches :	Concentration minimale inhibitrice (C.M.I.) Chlorure de benzalkonium seul	Concentration minimale inhibitrice (C.M.I.) Chlorure de benzalkonium + F ⁻ 1 microgramme/ml	Concentration minimale inhibitrice (C.M.I.) Fluorure de benzalkonium
Gonocoque	1,15mg/litre	0,60mg/litre	0,44mg/litre
Trichomonas	1,3mg/litre	0,9mg/litre	0,7mg/litre
Chlamydia	100mg/litre	85mg/litre	68mg/litre
Gardnerella	50mg/litre	41mg/litre	32,4mg/litre
Bacille de Ducrey	75mg/litre	62mg/litre	50,5mg/litre

On constate donc une très forte diminution de la concentration minimale inhibitrice pour le fluorure de benzalkonium.

5 Essai n° 5 : Activité bactéricide sur des souches normalisées :

Cet essai a été mené selon la norme AFNOR NFT 72-150, Mars 1981. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

Souches :	Concentration minimale Inhibitrice (C.M.I.) Chlorure de benzalkonium	Concentration minimale Inhibitrice (C.M.I.) Chlorure de benzalkonium + F ⁻ 1 microgramme/ml	Concentration minimale inhibitrice (C.M.I.) Fluorure de benzalkonium
Pseudomonas aeruginosa CNCM A 22	31,25mg/litre	18mg/litre	14,2mg/litre
Escherichia coli CNCM 54 127	6,57mg/litre	3mg/litre	2,5mg/litre
Staphylococcus aureus Souche Oxford CNCM 53 154	1,56mg/litre	1,1mg/litre	0,9mg/litre
Staphylococcus faecalis CNCM 5 855	4mg/litre	3,8mg/litre	2,9mg/litre
Mycobacterium smegmatis CNCM 7 326	30mg/litre	28mg/litre	21,9mg/litre

Là encore on constate une nette amélioration pour le fluorure de benzalkonium.

Essai n° 6 : Activité virucide :

5

Cet essai a été réalisé selon la méthode de filtration sur gel de SEPHADEX LH 20.

Les antiseptiques utilisés ont été le chlorure de benzalkonium C₁₄ en poudre, le fluorure de benzalkonium C₁₂ en cristaux, le fluorure de lithium en poudre. Les gammes de dilution de raison géométrique 2 dans l'eau bidistillée stérile ont été réalisées, et les essais sont effectués pour 10, 30, 50, 80, 100, 200, 500mg/litre de chlorure de benzalkonium et de fluorure de benzalkonium, avec ou sans adjonction de fluor de lithium à 1 ou 1,70mg/litre.

Les cultures cellulaires employées sont des cellules VERO (souches ATCC CCL81) entretenues sur milieu DMEM (EUROBIO) additionnés de 5% de sérum de veau foetal et d'antibiotiques (streptomycine à 50 microgramme par millilitre et pénicilline à 200.000 µ/l).

Le virus étudié a été le polio virus SABIN type I. Il est cultivé sur cellules VERO en boîte de ROUX. La détermination du titre infectieux a été réalisée selon la méthode de REED et MUENCH, avec l'aide de la table de conversion de WYSHAK et DETRE.

L'essai a été mené en trois étapes, avec tout d'abord la détermination du seuil de cytotoxicité des antiseptiques, puis l'étude de la capacité des cellules traitées par les antiseptiques à développer l'infection et enfin la détermination des effets virucides de ces antiseptiques.

1- Détermination du seuil de cytotoxicité des antiseptiques :

Avant toute recherche des effets virucides, il faut rechercher la dilution d'antiseptiques responsables d'une activité cytotoxique, et cela avant et après la filtration.

Avant la filtration, les cellules VERO sont cultivées sur des microplaques de filtration à 96 puits. Les antiseptiques sont alors déposés en dilution croissante de raison géométrique à raison de 0,1ml par capsule et de 8 capsules par dilution sur les tapis cellulaires. Les cellules et les dilutions de substances virucides sont laissées en contact une heure à 37°C puis les substances antiseptiques sont éliminées et remplacées par le milieu de culture sans sérum. Il est alors possible de calculer la DLO (dilution d'antiseptiques n'altérant pas les cellules cultivées) après une incubation de 48 heures.

Après la filtration, dans l'appareillage de filtration on introduit 30ml de la suspension de gel SEPHADEX LH 20. Cette opération est suivie d'une centrifugation, puis la solution d'antiseptique déposée à raison de 2ml sur la colonne de SEPHADEX. Une nouvelle centrifugation est réalisée avant la détermination de la DLO.

2- Capacité des cellules traitées par antiseptique à développer l'infection virale :

40

Les cellules VERO sont cultivées sur des microplaques à 96 puits. L'antiseptique est employé à sa DLO et laissé en contact pendant une heure puis remplacé par des dilutions croissantes de raison 10 de Poliovirus. Après contact d'une heure, la suspension virale est éliminée et remplacée par un milieu de culture sans sérum. La mesure de l'effet cytopathique se fait après une incubation de 48 heures à 37°C.

45

3- Détermination de l'activité virucide des antiseptiques :

Toutes les doses des antiseptiques utilisés sont bien évidemment inférieures au seuil de cytotoxicité enregistré précédemment. Dans les mélanges contenant un volume égal de suspension virale et d'antiseptique, on prélève 1ml à 30, 60, 120 et 180 minutes. Les prélèvements sont ensuite déposés sur les colonnes de SEPHADEX puis centrifugés. Parallèlement, une suspension témoin virale sans antiseptique est pratiquée dans les mêmes conditions.

Les résultats sont donnés par les tableaux suivants :

55

CBK : Chlorure de benzalkonium FBK : Fluorure de benzalkonium FLI : Fluorure de lithium		
Etude de seuil de cytotoxicité (DLO)		
Antiseptique	Avant filtration	Après filtration
CBK	0,05%	~ 0,01%
CBK + FLI	0,05%	~ 0,01%
FBK	0,01%	~ 0,005%
FBK + FLI	0,01%	~ 0,005%

Capacité des cellules à développer l'infection virale				
	Titre des suspensions virales (UFP/ml)			
Témoin virus	CBK + virus	[CBK + FLI] + virus	FBK + virus	[FBK + FLI] + virus
$10^{7,94}$	$10^{7,84}$	$10^{7,84}$	$10^{6,84}$	$10^{6,04}$
UFP = Unité Formant Plage (UFP/ml)				

Activité virucide des antiseptiques sur le virus poliomyélique après filtration sur gel, en fonction du temps de concentration					
Antiseptique	Concentration finale (en mg/l)	Titre viral exprimé en UFP/ml Temps de contact virus/antiseptique			
		30mn.	60mn.	120mn.	180mn.
Chlorure de benzalkonium	200	$10^{1,74}$	$10^{1,74}$	$10^{1,74}$	$10^{1,54}$
	100	0	0	0	0
	50	$10^{1,74}$	$10^{1,74}$	$10^{1,84}$	0
	20	$10^{1,84}$	$10^{1,84}$	$10^{1,74}$	0
	10	$10^{4,84}$	$10^{3,84}$	$10^{3,84}$	~0
Chlorure de benzalkonium + Fluorure de lithium (1mg/l)	200	$10^{1,84}$	$10^{1,84}$	$10^{1,74}$	$10^{1,74}$
	100	0	0	0	0
	50	$10^{1,84}$	$10^{1,84}$	$10^{1,84}$	0
	20	$10^{1,74}$	$10^{1,84}$	$10^{1,84}$	0
	10	$10^{3,84}$	$10^{3,84}$	10^3	0
Fluorure de benzalkonium	200	$10^{1,74}$	$10^{1,74}$	$10^{1,84}$	$10^{1,34}$
	100	0	0	0	0
	50	$10^{1,34}$	$10^{1,34}$	0	0
	20	$10^{1,84}$	$10^{1,84}$	$10^{1,84}$	0
	10	$10^{2,54}$	$10^{2,54}$	$10^{2,34}$	$10^{2,34}$
Fluorure de benzalkonium + Fluorure de lithium (1mg/l)	200	$10^{1,74}$	$10^{1,74}$	$10^{1,84}$	$10^{1,84}$
	100	0	0	0	0
	50	$10^{1,3}$	$10^{1,3}$	0	0
	20	$10^{1,84}$	$10^{1,74}$	$10^{1,34}$	0
	10	$10^{3,84}$	$10^{3,84}$	10^3	$10^{8,54}$

L'activité virucide en fonction du temps de contact virus-antiseptique montre donc que pour toutes les concentrations employées, le résultat obtenu, c'est-à-dire l'inhibition virale, est égale ou supérieure à celle exigée par l'Agence pour la Protection de l'Environnement (voir SS.BLOCK."Desinfection, sterilization and

preservation "Editions Lea et Febiger, Philadelphia U.S.A., 1977).

Le chlorure de benzalkonium est actif à 0,01% en trente minutes de contact. Il en est de même avec le fluorure de benzalkonium. Cependant, pour des concentrations plus faibles, telles que 0,85% et 0,82%, l'inhibition virale est notée dès 120 minutes pour le fluorure de benzalkonium, alors qu'il faut attendre au moins 180 minutes pour le chlorure de benzalkonium.

Essai n° 7 : Activité virucide selon la norme AFNOR :

L'activité virucide du fluorure de benzalkonium a été déterminée en suivant la norme AFNOR T72-180. Les résultats suivants ont été obtenus :

1/ Sur Herpès Simplex Virus Type 2 :		
	Concentration inhibitrice (% en poids)	Toxicité cellulaire
Chlorure de benzalkonium	0,01%	0,05%
Fluorure de benzalkonium	0,0075%	0,08%

2/ Sur Cytomégalovirus :		
	Concentration inhibitrice (% en poids)	Toxicité cellulaire
Chlorure de benzalkonium	0,01%	0,05%
Fluorure de benzalkonium	0,0075%	0,08%

LES MODES DE REALISATION PREFERENTIELS DE L'INVENTION POUR SES APPLICATIONS EN CONTRACEPTION LOCALE SONT LES SUIVANTES :

OVULES :

Fluorure de benzalkonium 1,00%

Excipients : Glycérides semi synthétiques ou beurre de cacao, ou gélatine, glycérine et eau purifiée, antioxygènes, antiseptiques.

CREMES :

Fluorure de benzalkonium 1,00%

Excipients : Eau distillée ou purifiée, humectants, gélifiants, émulsifiant, stabilisateur, antioxygène, antiseptique. (A répartir en proportions variables en fonction de la viscosité). pH compris entre 4,5 et 6,5 (acide citrique de préférence).

. ONGUENTS et POMMADES :

Fluorure de benzalkonium 1,00%

- 5 Excipients : Eau distillée ou purifiée, émulsifiant, excipients du type corps gras (vaseline, lanoline, lanovasoline, stéarovasoline) stabilisateur, antioxygène, antiseptique. (A répartir en proportions variables en fonction de la viscosité). pH compris entre 4,5 et 6,5 (acide citrique de préférence).

10

. GELEE :

Fluorure de benzalkonium 1,00%

- 15 Excipients : Dérivés solubles de la cellulose compatibles avec les tensio-actifs surfactifs cationiques, eau distillée ou purifiée, glycérine, sorbitol, antioxygène, antiseptique. (A répartir en proportions variables en fonction de la viscosité). pH compris entre 4,5 et 6,5 (acide citrique de préférence).

20

. FILM SOLUBLE :

Fluorure de benzalkonium 1,00%

- 25 Excipients : Alcool polyvinylique, glycérine, sorbitol, propylèneglycol, eau distillée ou purifiée antioxygène. pH compris entre 4,5 et 6,5 (acide citrique de préférence).

30 . COMPRIMES :

Fluorure de benzalkonium 20mg par comprimé

Excipients : Lactose, stéarate de magnésium, cellulose, amidon, acide citrique, bicarbonate de sodium.

35

. SAVONS SYNTHETIQUES EN PAINS OU EN PATES :

40 Fluorure de benzalkonium 2%

Excipients : Produits moussants et mouillants compatibles avec les ammonium quaternaire (par exemple tensio-actif amphotère du type bétaine ou amino-bétaine) émouillants, stabilisateur, antioxygène, antiseptique. pH compris entre 4,5 et 6,5 (acide citrique de préférence).

45

. SOLUTIONS PRETES A L'EMPLOI :

50 Fluorure de benzalkonium 0,40%

Excipients : Eau distillée ou purifiée, éthanol, antioxygène, glycérine, sorbitol, antiseptique. pH compris entre 4,5 et 6,5 (acide citrique de préférence).

55

SOLUTIONS A DILUER :

Fluorure de benzalkonium 10%

- 5 Excipients : eau distillée ou purifiée, éthanol, antioxygène, glycérine, sorbitol, antiseptique. pH compris entre 4,5 et 6,5 (acide citrique de préférence).

- 10 APPLICATION DE L'INVENTION DANS LE DOMAINE DE L'ANTISEPTIE, DE L'ANTIBIOTHERAPIE ... ET NOTAMMENT DANS LA LUTTE CONTRE LES MST :

Les modes de réalisations préférentiels de l'invention par exemple pour son application en dermatologie et vénérologie à titre d'antiseptique sont les suivants :

15

CREMES et LAITS :

- 20 Fluorure de benzalkonium 1,00%

Excipients : Eau distillée ou purifiée, humectants, émulsifiant, stabilisateur, antioxygène, antiseptique. (A répartir en proportions variables en fonction de la viscosité). pH de 4,5 à 6,5 (acide citrique de préférence).

25

ONGUENTS et POMMADES :

Fluorure de benzalkonium 1,00%

30

Excipients : Eau distillée ou purifiée, émulsifiant, excipients du type corps gras (vaseline, lanoléine, lanovaseline, stéarovaseline), stabilisateur, anti-oxygène, antiseptique. (A répartir en proportions variables en fonction de la viscosité). pH de 4,5 à 6,5 (acide citrique de préférence).

35

SAVONS SYNTHETIQUES EN PAINS OU EN PATES :

Fluorure de benzalkonium 1,8% à 2%

40

Excipients : Produits moussants et mouillants compatibles avec les ammoniums quaternaires (par exemple tensio-actif amphotère du type bétaine ou amino-bétaine) émollients, stabilisateur, antioxygène, antiseptique régulateur du pH acide citrique.

45

SOLUTIONS :

Fluorure de benzalkonium 1,00%

50

Excipients : Eau distillée ou purifiée, éthanol, antioxygène, glycérine, sorbitol, antiseptique. pH de 4,5 à 6,5 (acide citrique de préférence).

- 65 Les modes de réalisation préférentiels de l'invention, par exemple pour son application en dermatologie à titre d'antibiotique local sont les suivants :

SOLUTIONS :

Erythromycine base 4%
Fluorure de benzalkonium de 0,2% à 0,8%

Excipients : Alcool éthylique, propylène glycol, eau distillée.

GELS :

Erythromycine base 4%
Fluorure de benzalkonium de 0,2% à 0,8%

Excipients : Alcool éthylique, hydroxypropylcellulose, eau distillée, glycérine.

POMMADES :

Néomycine base 0,35%
Fluorure de benzalkonium de 0,2% à 0,8%

ou Bacitracine 50 000 UI %

Fluorure de benzalkonium de 0,2% à 0,8%

ou Oxytétracycline Chlorhydrate 3%
Fluorure de benzalkonium de 0,2% à 0,8%
ou Auréomycine Chlorhydrate 3%

Fluorure de benzalkonium de 0,2% à 0,8%

Excipients : Vaseline, huile de vaseline, lanoline

CREME :

Soframycine sulfate 2,5%
Fluorure de benzalkonium de 0,2% à 0,8%

Excipients : propylèneglycol, polyoxyéthylèneglycol, eau distillée.

Les modes de réalisation préférentiels de l'invention, par exemple pour son application en oto-rhino-laryngologie, à titre d'antibiotique local sont les suivants :

POMMADES OPHTALMIQUES :

Auréomycine 1%
Fluorure de benzalkonium de 0,2% à 0,8%
ou Oxytétracycline 0,50%
Fluorure de benzalkonium de 0,2% à 0,5%

Excipients : Vaseline, huile de vaseline, lanoline.

SOLUTION NASALE :

Soframycine sulfate 1,25%
 Fluorure de benzalkonium de 0,50% à 1%

5

Excipients : Eau distillée, acide citrique, chlorure de sodium.

10 APPLICATION DE L'INVENTION NS LE DOMAINE DE LA DESINFECTION :

Ce domaine concerne le traitement des sols, surfaces, instruments ... par des produits bactéricides de contact.

Les modes de réalisation préférentiels de l'invention pour cette application sont les suivants :

15

20

25

30

USAGE	FLUORURE DE BENZALKONIUM	EXCIPIENTS
Mains	0,05% à	Eau purifiée ou alcool
Epiderme	0,1%	q. s. p. 100%
Instruments à stériliser à désinfecter à stériliser à désinfecter	0,08% à 1,0%	Eau purifiée q. s. p. 100%
Textiles	0,05%	Eau purifiée q. s. p. 100%
Instruments	0,08%	Ethanol 10%
type thermomètre	à 1,0%	Eau purifiée q. s. p. 100%
Lavages des surfaces (chambres, planchers sols)	0,1%	Eau purifiée q. s. p. 100%
		q. s. p. 100%

35

Les essais ont été menés suivant la norme AFNOR NFT 72-150 mars 81 avec du fluorure de benzalkonium comme principe actif. Le neutralisant utilisé a été le suivant : 3% de Tween 80 (V/V) et 0,3% de lécithine (M/V). Le pH du milieu étant de 7,2.

40

APPLICATION DE L'INVENTION EN COSMETOLOGIE :

Les modes de réalisation préférentiels de l'invention en cosmétologie sont décrits ci-après.

Les formes galéniques suivantes peuvent être présentées en cosmétologie: crèmes, laits, pommades, solutions, bains moussants, savons synthétiques, shampooings, lotions intimes, lotions désinfectantes.

45

Les formules des excipients sont les mêmes que pour les présentations pharmaceutiques mais les concentrations en Fluorure de benzalkonim seront différentes.

Ces concentrations sont les suivantes :

1,8% à 2% pour les produits rincés (type savons synthétiques) 0,1% à 0,2% pour les produits non rincés.

50

Peuvent également entrer dans ces formulations des principes actifs chimiques ou d'origine naturelle aux concentrations et doses autorisées en cosmétologie.

Les crèmes et laits peuvent être en phase continue aqueuse (émulsion huile/eau ou eau/huile) ou pâteuse à chaud se diluant dans l'eau.

55

Les différents excipients cités à titre d'exemple correspondent à titre indicatif non limitatif aux produits suivants :

. Humectants : glycérol, propylène, glycol, diéthylène glycol, polyoxéthylène glycol.

. Emulsifiants : stéarate de sodium, cire d'abeilles, ester de sorbitol, ester de polyoxéthylène glycol, alcool gras, triethanolamine lanoline, tween, stéarate de glycol et polyglycols.

. Stabilisateurs : stéarate de glycol, alcool cétylique alginat, pectine, gomme, esters gras de polyols, esters de cellulose solubles.

. Antioxygènes : acide tartrique, citrique et ascorbique.

. Antiseptiques : acide borique, acide benzoïque, acide parabenzoïque et leurs esters méthyliques ou propyliques, sodés ou non.

. pH : toutes ces formulations sont particulièrement efficaces à des pH compris entre 4,5 et 6,5. pour obtenir cette fourchette on utilise principalement l'acide citrique.

10 Revendications

1. Composition inhibitrice ou destructrice d'au moins un être vivant unicellulaire tel qu'un protozoaire, microbe, bactérie, gamète, champignon, levure, virus ou autre, caractérisée en ce qu'elle renferme au moins un sel d'ammonium quaternaire de formule :

15

20

25

30

où R est un radical alcoyle pouvant varier entre C_8H_{17} et $C_{18}H_{37}$.

2. Composition antibiotique, caractérisée en ce qu'elle renferme au moins un sel d'ammonium quaternaire de formule :

35

40

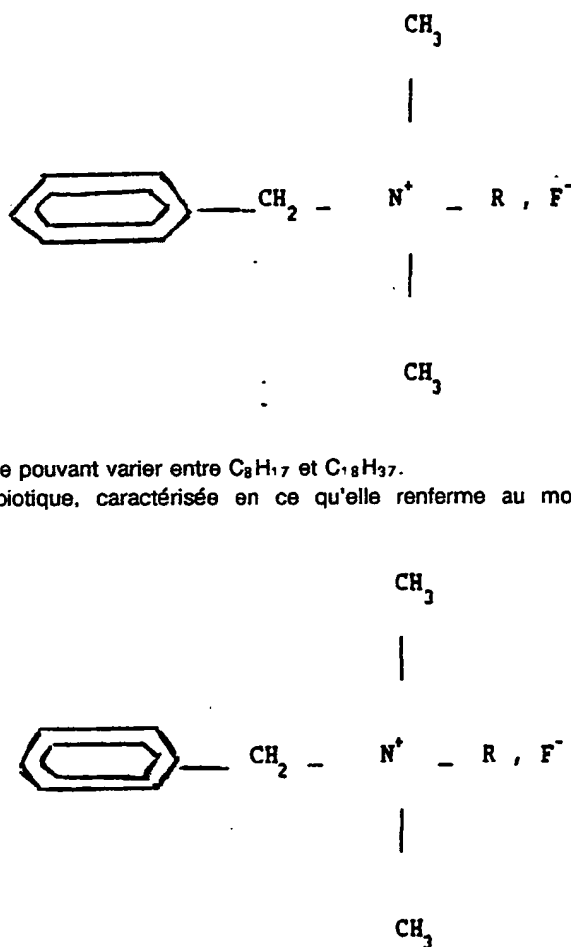
45

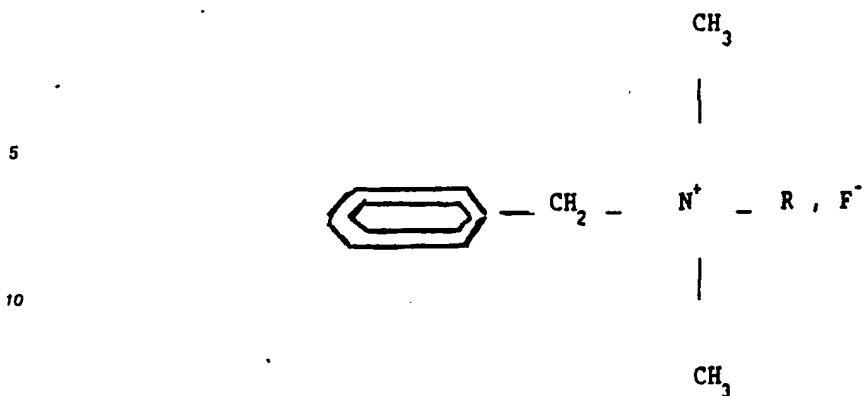
50

où R est un radical alcoyle pouvant varier entre C_8H_{17} et $C_{18}H_{37}$.

3. Composition virucide, caractérisée en ce qu'elle renferme au moins un sel d'ammonium quaternaire de formule :

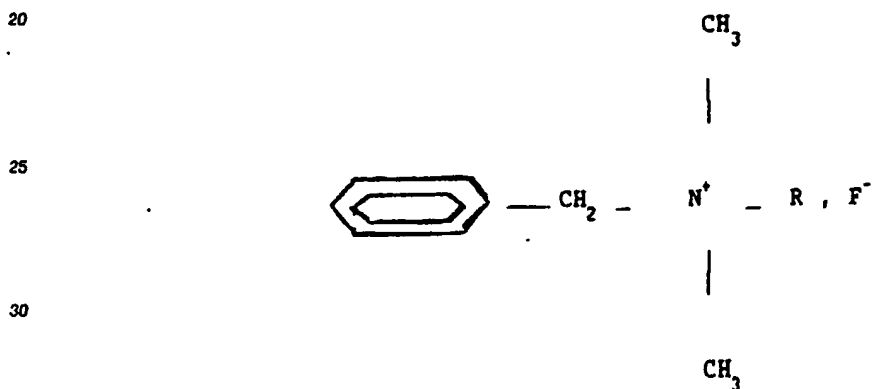
55





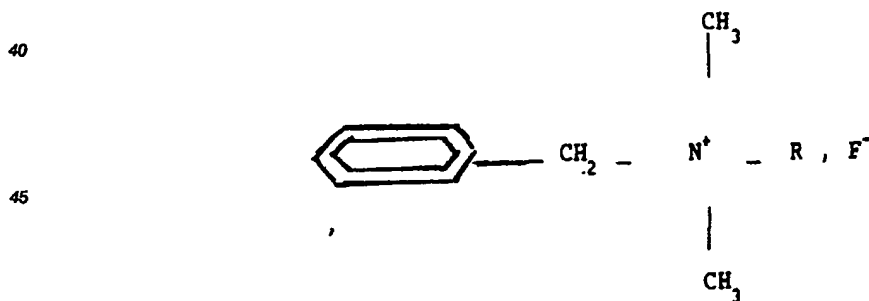
15 où R est un radical alcoyle pouvant varier entre C₈H₁₇ et C₁₈H₃₇.

4. Composition fongicide, caractérisée en ce qu'elle renferme au moins un sel d'ammonium quaternaire de formule :



35 où R est un radical alcoyle pouvant varier entre C₈H₁₇ et C₁₈H₃₇.

5. Composition pharmaceutique bactéricide, caractérisée en ce qu'elle renferme au moins un sel d'ammonium quaternaire de formule :



50 où R est un radical alcoyle pouvant varier entre C₈H₁₇ et C₁₈H₃₇.

6. Composition destinée à être appliquée sur les organes génitaux pour lutter contre les maladies sexuellement transmissibles, caractérisée en ce qu'elle renferme au moins un sel d'ammonium quaternaire de formule :

55

5

10

15

où R est un radical alcoyle pouvant varier entre C_8H_{17} et $C_{18}H_{37}$.

7. Composition contraceptive locale, notamment spermicide, caractérisée en ce qu'elle renferme au moins un sel d'ammonium quaternaire de formule :

20

25

30

35

où R est un radical alcoyle pouvant varier entre C_8H_{17} et $C_{18}H_{37}$.

8. Composition cosmétique ou d'hygiène corporelle, caractérisée en ce qu'elle renferme au moins un sel d'ammonium quaternaire de formule :

40

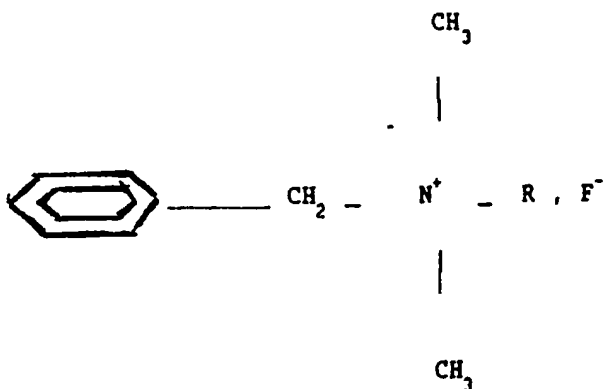
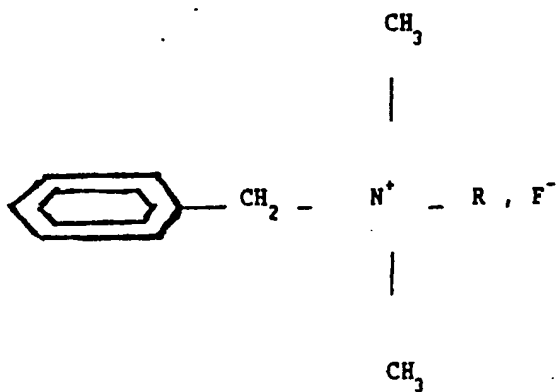
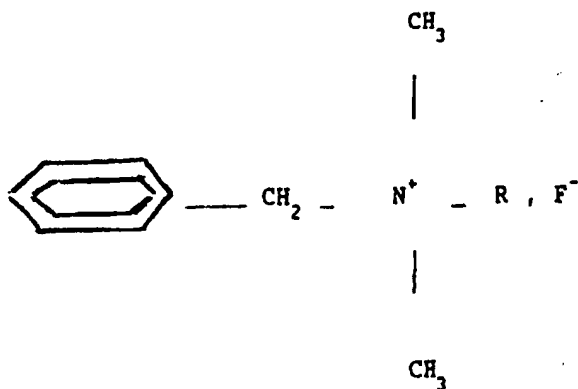
45

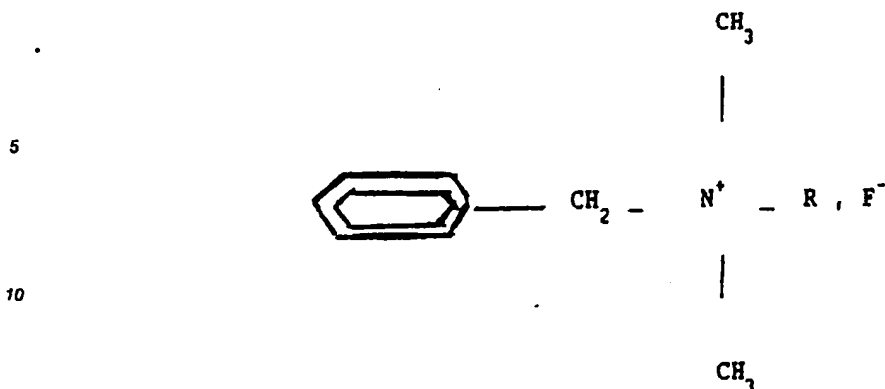
50

55

où R est un radical alcoyle pouvant varier entre C_8H_{17} et $C_{18}H_{37}$.

9. Composition pour la désinfection locale du corps humain ou de surfaces, caractérisée en ce qu'elle renferme au moins un sel d'ammonium quaternaire de formule :





15

où R est un radical alcoyle pouvant varier entre C_8H_{17} et $\text{C}_{18}\text{H}_{37}$.

10. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisée en ce que R est compris entre $\text{C}_{12}\text{H}_{25}$ et $\text{C}_{14}\text{H}_{29}$.

20 11. Composition galénique selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, caractérisée en ce qu'elle comporte entre 0,05% et 7% en poids, notamment de l'ordre de 1%, d'un tel sel d'ammonium quaternaire suffisamment purifié de façon à pouvoir être utilisée pour l'être humain ou l'animal.

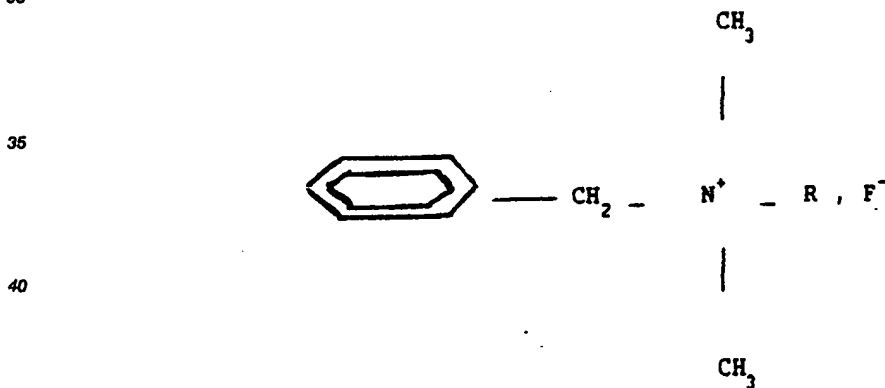
12. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, caractérisée en ce qu'elle renferme un autre principe actif choisi en fonction de la destination de la composition - notamment un antibiotique-, en combinaison avec le fluorure d'ammonium quaternaire.

25 13. Composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, caractérisée en ce qu'elle renferme en outre au moins un fluorure métallique.

14. Composition selon la revendication 13, caractérisée en ce qu'elle renferme du fluorure de lithium.

15. Médicament, caractérisé caractérisée en ce qu'il renferme au moins un sel d'ammonium quaternaire de formule :

30



45

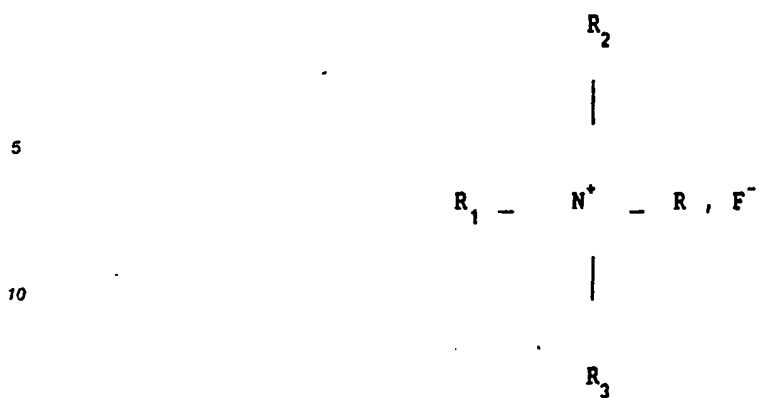
où R est un radical alcoyle pouvant varier entre C_8H_{17} et $\text{C}_{18}\text{H}_{37}$.

16. Médicament selon la revendication 15, caractérisé en ce que R est compris entre $\text{C}_{12}\text{H}_{25}$ et $\text{C}_{14}\text{H}_{29}$.

50 17. Médicament selon l'une quelconque des revendications 15 et 16, caractérisé en ce qu'il renferme entre 0,2% et 1% en poids de fluorure d'ammonium quaternaire.

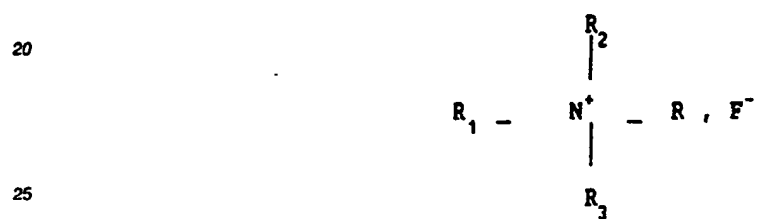
18. Application d'au moins un fluorure d'ammonium quaternaire de formule générale :

55



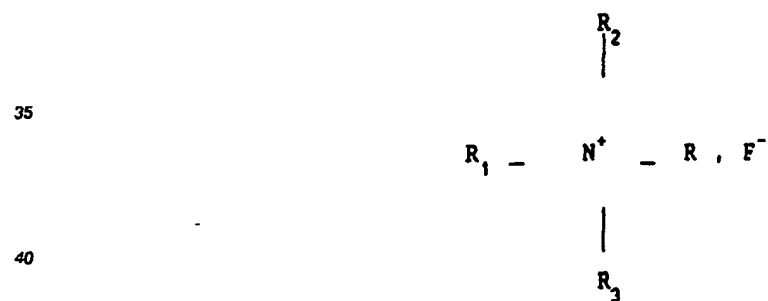
pour obtenir une composition spermicide.

19. Application d'au moins un fluorure d'ammonium quaternaire de formule générale :



pour obtenir une composition pharmaceutique antibiotique admissible par voie générale.

20. Application d'au moins un fluorure d'ammonium quaternaire de formule générale :

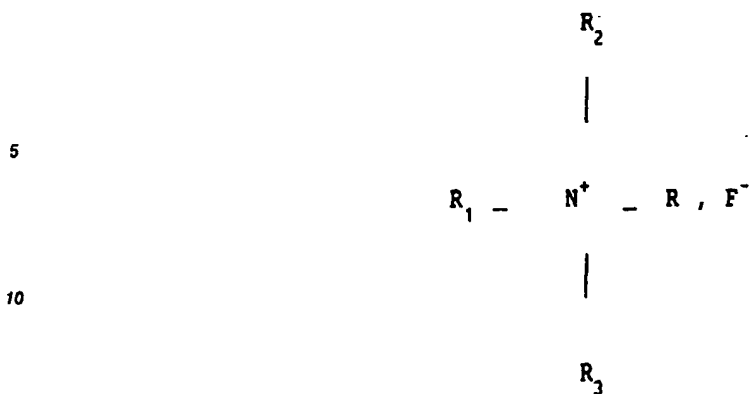


pour obtenir une composition topique antibiotique.

21. Application d'au moins un fluorure d'ammonium quaternaire de formule générale :

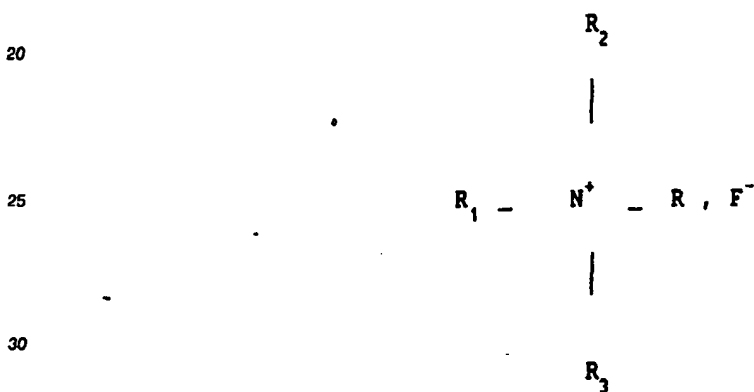
50

55



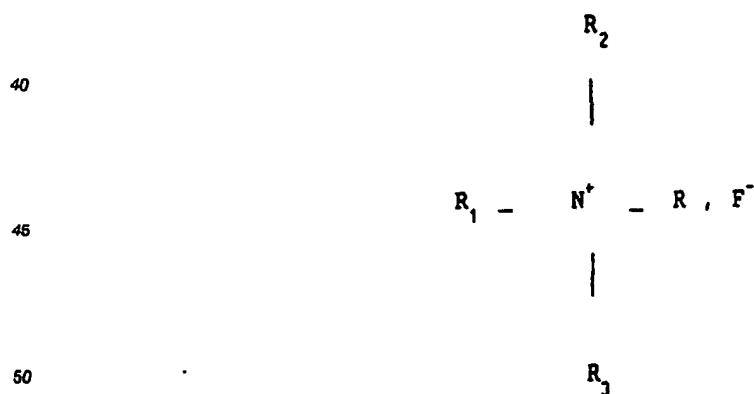
pour obtenir une composition pharmaceutique bactéricide.

22. Application d'au moins un fluorure d'ammonium quaternaire de formule générale :



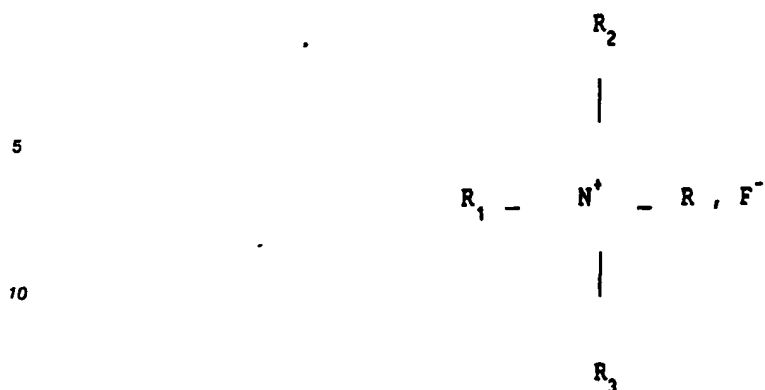
pour obtenir une composition topique destinée à lutter contre les affections virales, notamment les affections virales de la peau et des organes génitaux.

23. Application d'au moins un fluorure d'ammonium quaternaire de formule générale :



pour obtenir une composition pharmaceutique administrable par voie générale ou parentérale destinée à lutter contre les virus ou les rétrovirus, notamment l'Herpès et le LAV (ou HIV) responsable du SIDA.

24. Application d'au moins un fluorure d'ammonium quaternaire de formule générale :



pour obtenir une composition destinée à lutter contre les affections mycosiques.

25. Application selon l'une quelconque des revendications 18 à 24, caractérisée en ce que R_1 est formé du radical benzyle, R_2 et R_3 sont formés du radical méthyle et R est un radical alcoyle entre C_6H_{17} et $C_{18}H_{37}$.

26. Application selon l'une quelconque des revendications 18 à 25, caractérisée en ce que R est compris entre $C_{12}H_{25}$ et $C_{14}H_{29}$.

27. Procédé de préparation d'un fluorure d'ammonium quaternaire sous forme de sel solide ou pâteux suffisamment pur pour être inclus dans une composition destinée à l'être humain ou animal, caractérisé en ce que l'on fait réagir en quantités stoechiométriques un méthylcarbonate d'ammonium quaternaire avec de l'acide fluorhydrique solubilisé dans un alcool jusqu'à l'arrêt du dégagement gazeux d'anhydride carbonique, puis on élimine l'alcool restant par évaporation sous vide.

28. Procédé selon la revendication 27, caractérisé en ce que l'on purifie préalablement le méthylcarbonate d'ammonium quaternaire en le lavant à chaud dans de l'éther de pétrole jusqu'à disparition de sa couleur jaune, puis on sépare le méthylcarbonate d'ammonium quaternaire par décantation.

29. Procédé selon l'une quelconque des revendications 27 et 28, caractérisé en ce que l'acide fluorhydrique gazeux par un courant d'air à partir de solution aqueuse à 40%, et solubilisation dans l'alcool à 0°C.

30. Procédé selon l'une quelconque des revendications 27 à 29 caractérisé en ce que l'acide fluorhydrique est solubilisé dans le méthanol.

31. Procédé selon l'une quelconque des revendications 27 à 30, caractérisé en ce que l'évaporation sous vide de l'alcool est réalisée en deux étapes, notamment une étape à 10mm de mercure ($1,316 \cdot 10^4$ Pa) puis une étape à 0,01mm de mercure (13,16 Pa).

32. Procédé selon l'une quelconque des revendications 27 à 31, caractérisé en ce que le fluorure d'ammonium quaternaire obtenu est ultérieurement purifié par lavage à chaud dans de l'éther de pétrole puis séparation par centrifugation et séchage sous vide.

33. Procédé selon l'une quelconque des revendications 27 à 32, caractérisé en ce que le fluorure d'ammonium quaternaire obtenu est ultérieurement purifié par dissolution à chaud dans l'acétone puis refroidissement lent, séparation du résidu pâteux et séchage sous vide.

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int. Cl.4)
X,D	FR-A-1 297 708 (GABA AG) * Page 1, colonne de gauche, dernier alinéa, colonne de droite, lignes 1-6; page 2, colonne de gauche, premier alinéa; page 3, colonne de droite, exemple 4 *	1,2,5, 10-13, 15-17, 19-21, 25,26	A 61 K 31/14
P,X	EP-A-0 253 037 (ATLANTIC PHARMACEUTICAL PRODUCTS) * Revendications *	1,2,5, 10-13, 15-17, 19-21, 25,26	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.4) A 61 K 31/00
Lieu de la recherche La Haye		Date d'achèvement de la recherche 14-06-1988	Examineur THEUNS
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			



X ABSENCE D'UNITE D'INVENTION

La division de la recherche estime que la présente demande de brevet européen ne satisfait pas à l'exigence relative à l'unité d'invention et concerne plusieurs inventions ou pluralités d'inventions, à savoir:

- 1) Revendications 1,2,5,15-17,19-21 et 10-14,25,26 partiellement:
Composition inhibitrice ou destructrice d'au moins un être vivant unicellulaire, composition antibiotique ou bactéricide, et médicament
2. Revendications 1,3,22,23 et 10-14,25,26 partiellement:
Composition virucide
3. Revendications 1,4,24 et 10-14,25,26 partiellement:
Composition fongicide
4. Revendications 6 et 10-14 partiellement:
Composition pour lutter contre les maladies sexuellement transmissibles
5. Revendications 1,7,18 et 10-14,25,26 partiellement:
Composition contraceptive locale
6. Revendications 8 et 10-14 partiellement:
Composition cosmétique ou d'hygiène corporelle
7. Revendications 1,9 et 10-14 partiellement:
Composition pour la désinfection locale du corps humain ou de surfaces
8. Revendications 27-33:
Procédé de préparation



Office européen
des brevets

REVENDEICATIONS DONNANT LIEU AU PAIEMENT DE TAXES

La présente demande de brevet européen comportait lors de son dépôt plus de dix revendications.

☐ Toutes les taxes de revendication ayant été acquittées dans les délais prescrits, le présent rapport de recherche européenne a été établi pour toutes les revendications.

☐ Une partie seulement des taxes de revendication ayant été acquittée dans les délais prescrits, le présent rapport de recherche européenne a été établi pour les dix premières revendications ainsi que pour celles pour lesquelles les taxes de revendication ont été acquittées.

à savoir les revendications:

☐ Aucune taxe de revendication n'ayant été acquittée dans les délais prescrits, le présent rapport de recherche européenne a été établi pour les dix premières revendications.

X ABSENCE D'UNITE D'INVENTION

La division de la recherche estime que la présente demande de brevet européen ne satisfait pas à l'exigence relative à l'unité d'invention et concerne plusieurs inventions ou pluralités d'inventions.

à savoir:

Voir page - B -

☐ Toutes les nouvelles taxes de recherche ayant été acquittées dans les délais impartis, le présent rapport de recherche européenne a été établi pour toutes les revendications.

☐ Une partie seulement des nouvelles taxes de recherche ayant été acquittée dans les délais impartis, le présent rapport de recherche européenne a été établi pour les parties de la demande de brevet européen qui se rapportent aux inventions pour lesquelles les taxes de recherche ont été acquittées

à savoir les revendications:

☒ Aucune nouvelle taxe de recherche n'ayant été acquittée dans les délais impartis, le présent rapport de recherche européenne a été établi pour les parties de la demande de brevet européen qui se rapportent à l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications.

à savoir les revendications: 1, 2, 5, 15-17, 19-21 et 10-14, 25, 26 partiellement